

## 甘草次酸对胃癌细胞SGC7901增殖、凋亡及PI3K-Akt-mTOR通路的影响

刘景华<sup>1</sup>, 赵阳<sup>1</sup>, 李宾<sup>1</sup>, 于雅丽<sup>1</sup>, 王万里<sup>1</sup>, 任艳红<sup>2</sup>

1. 郑州市第七人民医院 消化内科, 河南 郑州 450000

2. 济南市人民医院 药剂科, 山东 济南 271100

**摘要:** 目的 探究甘草次酸对胃癌SGC7901细胞增殖、凋亡及PI3K-Akt-mTOR通路的影响。方法 体外培养胃癌SGC7901细胞, 分为对照组和甘草次酸低、中、高浓度(12.5、25.0、50.0 μmol/L)组, 药物处理24、48、72 h后, CCK-8法检测细胞增殖情况; 药物处理48 h后, 流式细胞仪检测细胞周期分布及细胞凋亡情况; Western blotting检测凋亡相关蛋白Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3以及PI3K-Akt-mTOR信号通路中磷酸化PI3K、Akt、mTOR蛋白表达水平。结果 甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞增殖受到明显抑制, 并呈时间和剂量相关性( $P < 0.05$ )。与对照组比较, 甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞比例显著降低( $P < 0.05$ ), G<sub>2</sub>/M期细胞比例及凋亡率显著升高( $P < 0.05$ ), Bax、cleaved Caspase-3蛋白表达水平显著升高( $P < 0.05$ ), Bcl-2、p-PI3K、p-Akt、p-mTOR蛋白表达水平显著降低( $P < 0.05$ )。结论 甘草次酸可抑制胃癌SGC7901细胞增殖, 促进其凋亡, 其机制可能与抑制PI3K-Akt-mTOR信号通路激活有关。

**关键词:** 甘草次酸; 胃癌细胞; 增殖; 凋亡; 磷脂酰肌醇3-激酶; 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2020)12-2444-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.12.016

## Effects of glycyrrhetic acid on proliferation, apoptosis, and PI3K-AKT-mTOR pathway of gastric cancer cells SGC7901

LIU Jinghua<sup>1</sup>, ZHAO Yang<sup>1</sup>, LI Bin<sup>1</sup>, YU Yali<sup>1</sup>, WANG Wanli<sup>1</sup>, REN Yanhong<sup>2</sup>

1. Department of Gastroenterology, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou 450000, China

2. Pharmaceutical Department, Jinan People's Hospital, Jinan 271100, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects of glycyrrhetic acid on proliferation, apoptosis and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) -serine/threonine protein kinase (Akt) -mammalian target of rapamycin (mTOR) (PI3K-Akt-mTOR) pathway of gastric cancer SGC7901 cells. **Methods** Gastric cancer SGC7901 cells were cultured *in vitro*, and divided into control group, low, medium and high concentration (12.5, 25.0 and 50.0 μmol/L) groups of glycyrrhetic acid. Cells proliferation was detected by CCK-8; Cells cycle distribution and apoptosis were detected by flow cytometry; The apoptosis-associated proteins Bcl-2, Bax, cleaved Caspase-3, and phosphorylation of PI3K, Akt and mTOR protein PI3K-Akt-mTOR signaling pathway expression levels were analysed by Western blotting. **Results** The proliferation of gastric cancer SGC7901 cells in low, medium and high concentrations groups of glycyrrhetic acid was significantly inhibited in a time- and dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, in the low, middle and high concentration groups of glycyrrhetic acid, the proportion of G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase cells of gastric cancer SGC7901 cells significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the proportion of G<sub>2</sub>/M phase cells and the apoptosis rate significantly increased ( $P < 0.05$ ). The expression levels of Bax and cleaved Caspase-3 proteins significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the expression levels of Bcl-2, p-PI3K, p-Akt and p-mTOR proteins significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Glycyrrhetic Acid can inhibit the proliferation and promote the apoptosis of gastric cancer SGC7901 cells, which may be related to the inhibition of PI3K-Akt-mTOR signaling pathway.

**Key words:** glycyrrhetic acid; gastric cancer cells; proliferation; apoptosis; phosphatidylinositol 3-kinase; serine/threonine protein kinase (akt); mammalian target of rapamycin

收稿日期: 2020-05-03

第一作者: 刘景华(1986—), 女, 河南巩义人, 主治医师, 研究方向为消化道肿瘤。

胃癌是临床常见的消化道恶性肿瘤,近年我国胃癌发病率、死亡率虽呈下降趋势,但仍处于全球较高水平,而且预后相对较差,治疗仍较为棘手,严重危害人类健康及生命<sup>[1-2]</sup>。甘草次酸是一种从甘草中提取的五环三萜化合物,具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒感染等功效,近年研究发现其对肝癌、胃癌等癌细胞均具有明显的抑制作用,而对正常体细胞的毒性较小<sup>[3-5]</sup>。但目前关于甘草次酸对胃癌细胞增殖、凋亡的影响及其可能的作用机制研究较少。近年来,由磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(protein kinase B, PKB, 又称 Akt)及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)组成的PI3K-Akt-mTOR信号通路与恶性肿瘤的相关性成为研究热点,据报道PI3K-Akt-mTOR信号通路与甲状腺癌、前列腺癌等癌症密切相关<sup>[6-7]</sup>,但关于其在甘草次酸治疗胃癌中的作用少见报道。本研究通过体外培养人胃癌细胞SGC7901,探究甘草次酸对胃癌细胞增殖、凋亡的影响以及可能的作用机制,从而为该病的治疗提供一定参考。

## 1 材料

### 1.1 主要试剂

甘草次酸(货号MB6099,质量分数 $\geq 98\%$ )购自大连美仑生物技术有限公司;RPMI 1640培养基(货号11875093)、胎牛血清(货号SH30084.02)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;CCK-8 试剂盒(货号BA00208)及GAPDH(货号bs-0755R)、Caspase-3(货号bs-0081R)、Bax(货号bs-0127R)、Bcl-2(货号bsm-33411M)抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;PI3K(货号20583-1-AP)、p-PI3K(货号55311-1-AP)、Akt(货号60203-2-Ig)、p-Akt(货号66444-1-Ig)、mTOR(货号20657-1-AP)、p-mTOR(货号66888-1-Ig)抗体购自美国 Proteintech 公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠 IgG 抗体(货号P8020)购自中国 Solarbio 公司。

超净工作台(型号SJ-CJ-1FD)购自苏州苏洁净化设备有限公司;多功能酶标仪(型号imark)购自美国 Bio-Rad 公司;CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(型号MCO-18AIC)购自日本三洋公司;流式细胞仪(型号FACSCalibur)购自美国 BD 公司;凝胶成像系统(型号BioSpectrum)购自美国 UVP 公司。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

人胃癌细胞株 SGC7901 购自北京协和肿瘤研

究所。将其接种于无菌培养瓶中进行常规传代培养,细胞单层贴壁培养于含10%胎牛血清、青霉素(100 U/mL)的RPMI 1640培养液中,并置于37℃、5% CO<sub>2</sub>饱和湿度培养箱中,每3天换液1次,取对数生长期细胞进行传代及用于后续实验。

### 2.2 CCK-8法检测胃癌SGC7901细胞增殖情况

取对数生长期SGC7901细胞制备成 $1 \times 10^4$ /mL的单细胞悬液,以200  $\mu$ L/孔接种于96孔板中,于37℃、5% CO<sub>2</sub>饱和湿度培养箱中培养24 h,细胞贴壁后微量移液枪去除培养液。将细胞分为甘草次酸低、中、高浓度组(加入甘草次酸的DMSO溶液,使甘草次酸的终浓度分别为12.5、25.0、50.0  $\mu$ mol/L)<sup>[5]</sup>、对照组(加入同体积的DMSO),同时设定仅添加培养液的空白组,每组每个时间点6个重复。继续培养24、48、72 h后弃掉培养液,每孔加入含10% CCK-8的培养液100  $\mu$ L,37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中孵育4 h,全自动酶标仪检测450 nm波长处各孔的吸光度(A)值,以空白孔调零,计算细胞增殖抑制率。

$$\text{细胞增殖抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.3 流式细胞仪检测胃癌SGC7901细胞周期分布

取对数生长期SGC7901细胞以 $3 \times 10^5$ /孔接种于6孔板中,培养24 h后弃去培养液,甘草次酸低、中、高浓度组和对照组加入相应药物(同“2.2”项),每组6个重复。药物处理48 h后弃去培养液,用PBS洗涤2次,然后用75%乙醇固定过夜,细胞固定后用预冷PBS洗涤2次,1 000 r/min离心5 min后500  $\mu$ L PBS重悬细胞沉淀,加入2.5  $\mu$ L RNase和2  $\mu$ L 0.2% Triton X-100室温避光孵育30 min,随后加入500  $\mu$ L 100  $\mu$ g/mL碘化丙啶(propidium iodide, PI),4℃避光染色30 min,最后上样流式细胞仪检测各组SGC7901细胞细胞周期分布。

### 2.4 流式细胞仪检测胃癌SGC7901细胞凋亡情况

细胞接种及给药同“2.3”项,给药处理48 h后弃掉培养液,加入0.25%胰蛋白酶进行消化,收集细胞并用预冷PBS洗涤2次,制备成细胞浓度为 $2 \times 10^5$ /mL的细胞悬液,吸取1 mL细胞悬液于离心管中,1 000 r/min离心5 min后PBS洗涤2次,细胞沉淀中加入200  $\mu$ L Binding Buffering悬浮细胞,接着加入5  $\mu$ L PI和5  $\mu$ L Annexin V-FITC,室温避光孵育15 min,再加400  $\mu$ L缓冲液,最后上样流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

### 2.5 Western blotting检测胃癌SGC7901细胞相关蛋白表达情况

细胞接种及给药同“2.3”项,将经药物处理48 h

后的细胞中加入适量RIPA裂解液于冰上裂解细胞30 min,参照蛋白提取试剂盒说明提取各组细胞中总蛋白。采用BCA蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度,然后SDS变性蛋白,取50 μg蛋白样品加样于SDS-PAGE凝胶中进行电泳,电泳结束后将凝胶转至PVDF膜上,转膜结束后于5%脱脂奶封闭1 h, TBST洗膜1次,按照说明书稀释并加入一抗(Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、GAPDH抗体),4 °C孵育过夜, TBST洗膜3次,分别加入辣根过氧化物酶山羊抗兔IgG作为二抗,室温孵育1 h, TBST洗膜3次, ECL显影液中显影,最后于凝胶成像仪中拍照,结果经Image Lab™软件进行灰度分析,以GAPDH为内参。

### 2.6 统计学分析

数据用SPSS 22.0统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-*q*检验。

## 3 结果

### 3.1 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞增殖的影响

随着药物处理时间延长,甘草次酸低、中、高浓

度组胃癌SGC7901细胞增殖抑制率逐渐升高,呈时间相关性。同一时间,与对照组比较,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞增殖抑制率明显升高,且呈剂量相关性。见表1。

### 3.2 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞周期的影响

与对照组比较,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞比例明显降低、G<sub>2</sub>/M期细胞比例明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),并呈浓度相关性。见图1和表2。

### 3.3 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞凋亡的影响

与对照组比较,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),并呈浓度相关性。见图2、表3。

### 3.4 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞凋亡相关蛋白表达的影响

与对照组比较,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞Bcl-2蛋白表达水平明显降低,Bax、cleaved-Caspase3蛋白表达水平明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),并呈浓度相关性。见图3和表4。

表1 各组胃癌SGC7901细胞增殖抑制率比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Comparison of proliferation inhibition rate of gastric cancer SGC7901 cells in different groups( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	浓度/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	细胞增殖抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
对照	—	—	—	—
甘草次酸	12.5	6.52±2.13	14.56±2.85	21.52±2.65
	25.0	12.63±2.98	24.28±3.42	36.35±2.12
	50.0	30.15±3.49	46.23±2.68	54.26±3.54

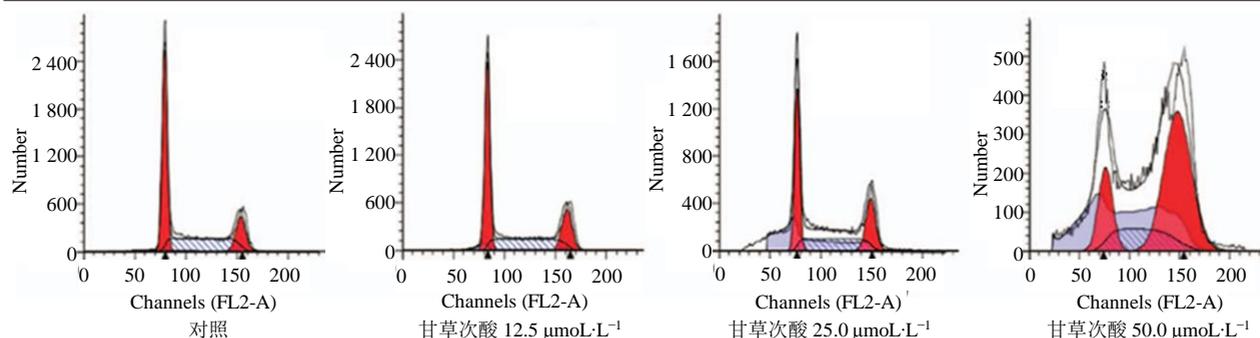


图1 各组胃癌SGC7901细胞周期分布情况

Fig. 1 Cell cycle distribution of gastric cancer SGC7901 cells in different groups

表2 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞周期的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of Glycyrrhetic Acid on cell cycle of gastric cancer SGC7901 cells( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	浓度/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期/%	S期/%	G <sub>2</sub> /M期/%
对照	—	59.58±4.91	24.47±5.06	15.95±3.06
甘草次酸	12.5	50.09±3.89*	23.73±3.81	26.18±3.62*
	25.0	43.71±3.16*	22.18±3.42	34.11±4.06*
	50.0	22.92±4.02*	20.89±4.78	56.19±5.63*

与对照组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group

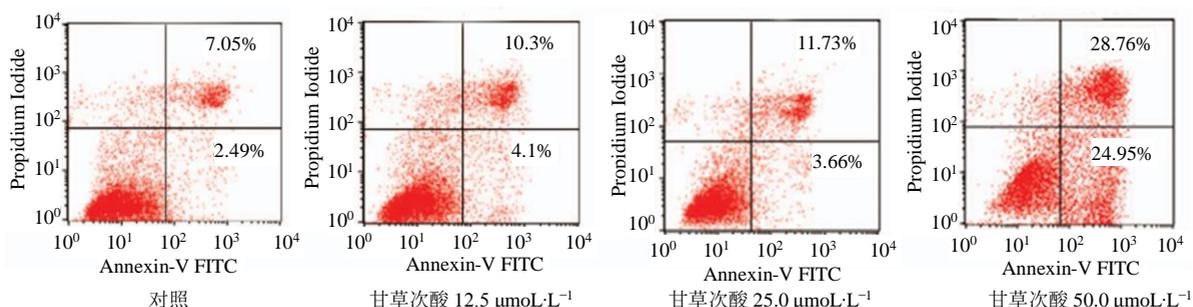


图2 各组胃癌SGC7901细胞凋亡率情况

Fig. 2 Apoptosis rate of gastric cancer SGC7901 cells in different groups

表3 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞凋亡的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of Glycyrrhetic Acid on cell apoptosis of gastric cancer SGC7901 cells ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	细胞凋亡率/%
对照	—	9.54±1.48
甘草次酸	12.5	14.40±1.08*
	25.0	15.39±1.92*
	50.0	53.71±3.58*

与对照组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group

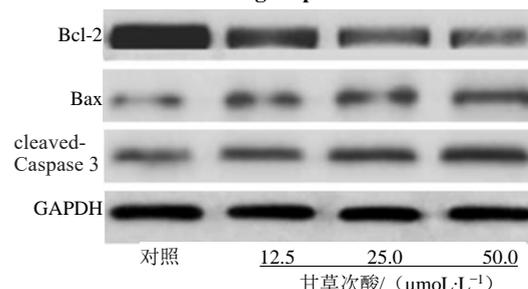


图3 各组胃癌SGC7901细胞凋亡相关蛋白表达情况

Fig.3 Expression of apoptosis-related proteins in gastric cancer SGC7901 cells in different groups

表4 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞凋亡相关蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab.4 Effect of Glycyrrhetic Acid on expression of apoptosis-related proteins of gastric cancer SGC7901 cells ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	Bcl-2/GAPDH	Bax/GAPDH	cleaved-Caspase3/GAPDH
对照	—	0.87±0.16	0.10±0.03	0.12±0.03
甘草次酸	12.5	0.52±0.08*	0.23±0.05*	0.28±0.07*
	25.0	0.39±0.05*	0.52±0.08*	0.42±0.10*
	50.0	0.26±0.04*	0.63±0.10*	0.79±0.12*

与对照组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group

### 3.5 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞PI3K-Akt-mTOR信号通路相关蛋白表达的影响

如图4和表5所示,与对照组比较,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞p-PI3K、p-AKT、p-mTOR蛋白表达水平明显降低,差异均有

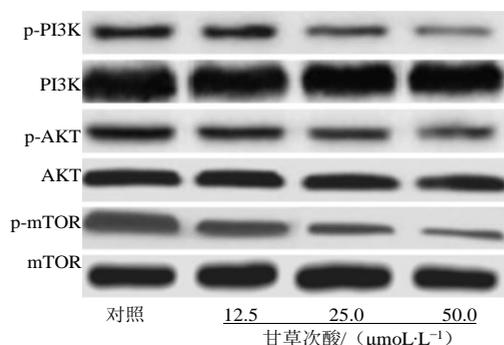


图4 各组胃癌SGC7901细胞PI3K-Akt-mTOR信号通路相关蛋白表达情况

Fig.4 Expression of PI3K-AKT-mTOR signaling pathway-related proteins in SGC7901 cells in different groups

统计学意义( $P < 0.05$ ),并呈浓度相关性。

### 4 讨论

胃癌是全球常见的恶性肿瘤,其中我国胃癌发病、死亡数约占世界的50%,疾病负担严重,是国家癌症防治的重点<sup>[2]</sup>。目前该病多采用手术、放化疗治疗,虽然具有一定的临床效果,但部分患者5年生存率不高,因此探究疾病的发病机制、寻找更为有效且副作用小的治疗药物,对患者的预后极为重要。大量研究表明,甘草次酸可抑制肺癌、乳腺癌、肝癌等多种肿瘤细胞的增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、阻滞细胞周期、抑制肿瘤细胞的侵袭、转移及诱导分化等<sup>[8]</sup>。本研究采用甘草次酸处理体外培养的胃癌SGC7901细胞,观察到甘草次酸可通过PI3K-Akt-mTOR通路影响胃癌SGC7901细胞的增殖、凋亡。

细胞凋亡是机体正常状态下自主调控的过程,可清除衰老、病变细胞,对于维持机体的正常发育

表5 甘草次酸对胃癌SGC7901细胞PI3K-Akt-mTOR信号通路相关蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )Table 5 Effect of Glycyrrhethinic Acid on expression of PI3K-Akt-mTOR signaling pathway-related proteins of gastric cancer SGC7901 cells( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	浓度/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT	p-mTOR/mTOR
对照	—	0.90±0.18	0.82±0.13	0.84±0.16
甘草次酸	12.5	0.59±0.12*	0.52±0.08*	0.56±0.12*
	25.0	0.41±0.10*	0.41±0.07*	0.43±0.08*
	50.0	0.30±0.07*	0.29±0.05*	0.33±0.06*

与对照组比较: \* $P < 0.05$ \* $P < 0.05$  vs control group

和自身稳定性具有重要作用<sup>[9]</sup>。当细胞受到外部或者内部刺激时,细胞失去对其生长的正常调控,导致细胞凋亡程序发生紊乱,从而诱导细胞增殖抑制及异常凋亡<sup>[10]</sup>。研究报道,甘草次酸对人前列腺癌PC3细胞具有一定的增殖抑制作用及促凋亡作用<sup>[11]</sup>。另有研究报道,甘草次酸对人肝癌HepG2细胞、胃癌SGC7901细胞的增殖均具有明显抑制作用<sup>[4-5]</sup>。本研究发现,甘草次酸可显著抑制胃癌SGC7901细胞的增殖,且对细胞的抑制作用呈时间相关性和浓度相关性。研究报道, $G_2/M$ 期细胞比例增多与细胞凋亡具有密切关系,而且细胞凋亡不受机体正常控制,是导致癌细胞无限增殖的主要原因<sup>[12]</sup>。进一步采用流式细胞仪检测胃癌SGC7901细胞周期及凋亡率,结果显示,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞 $G_0/G_1$ 期细胞比例显著低于对照组、 $G_2/M$ 期比例及凋亡率均显著高于对照组,并呈浓度相关性,提示甘草次酸可能通过诱导胃癌SGC7901细胞停滞在 $G_2/M$ 期,抑制细胞分裂,促进其凋亡,并且其可能通过诱导细胞凋亡的方式从而抑制细胞增殖。但关于甘草次酸诱导胃癌SGC7901细胞凋亡的具体机制还有待进一步研究。

研究报道,细胞凋亡过程是细胞内一系列基因的激活、表达及调控过程,其中凋亡诱导因子和凋亡抑制因子在凋亡程序中发挥重要作用<sup>[13]</sup>。Bcl-2家族是与细胞凋亡密切相关的一类蛋白,包括Bcl-2、Bcl-XL等凋亡抑制因子和Bax等促凋亡因子。正常情况下,Bcl-2、Bcl-XL防止细胞色素C释放以及与Bax结合形成二聚体拮抗Bax蛋白的促凋亡作用,抑制细胞凋亡;当细胞受到凋亡刺激时,Bax蛋白表达增加,促使线粒体膜通透性增加,使细胞色素C释放出来,激活caspase级联反应进而诱发细胞凋亡<sup>[14-15]</sup>。Caspase家族是包括Caspase-3、Caspase-9等多种促使细胞凋亡的蛋白酶,在细胞凋亡机制网络中处于核心地位,其中Caspase-3是最为

关键的细胞凋亡执行者,广泛参与肿瘤等疾病的发生发展过程中,而cleaved Caspase-3作为Caspase-3活化过程中经剪切产生的活性片段,其表达水平可有效反映细胞凋亡情况<sup>[16]</sup>。本研究发现,与对照组比较,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞Bcl-2蛋白表达水平显著降低,Bax、cleaved Caspase-3蛋白表达水平显著升高,并呈浓度相关性,提示甘草次酸可能通过下调抑凋亡蛋白Bcl-2表达、上调促凋亡蛋白Bax、cleaved Caspase-3表达,促进胃癌SGC7901细胞发生凋亡。

PI3K-Akt-mTOR信号通路是细胞内重要的信号转导途径,参与调控细胞增殖、分化、凋亡等多种生物学功能,并且其失调与癌症的发生发展密切相关<sup>[17]</sup>。为了进一步探讨甘草次酸治疗胃癌的作用机制,本研究观察了PI3K-Akt-mTOR信号通路在其中的作用。机体正常状态下,Akt以无活性的形式存在;当受到信号刺激后,PI3K被募集到细胞膜,催化磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate,PIP<sub>2</sub>)转化为磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol-3,4,5-bisphosphate,PIP<sub>3</sub>),PIP<sub>3</sub>促进Akt蛋白磷酸化而活化,活化的AKT通过抑制结节性硬化(tuberous sclerosis complex, TSC)-1和TSC-2形成二聚体,激活下游mTOR,活化的Akt、mTOR通过多种途径使癌细胞免于死亡,促进癌细胞生存,抑制凋亡发生<sup>[6-7]</sup>。研究报道,PI3K-Akt-mTOR通路可促进前列腺癌细胞侵袭、转移,并抑制癌细胞凋亡<sup>[18]</sup>。化疗药物伊立替康(Irinotecan, CPT-11)可通过抑制PI3K/Akt通路诱导胃癌细胞SGC7901凋亡,抑制其增殖<sup>[19]</sup>。通过靶向治疗可抑制甲状腺癌中PI3K-Akt-mTOR通路激活及癌细胞增殖<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,与对照组比较,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901细胞p-PI3K、p-Akt、p-mTOR蛋白表达水平均显著降低,并呈浓度相关性,提示甘草次酸可能通过抑制PI3K、

Akt、mTOR 蛋白磷酸化表达,抑制PI3K-Akt-mTOR 信号通路激活,从而诱导胃癌SGC7901 细胞凋亡,抑制细胞增殖。另有研究表明,Akt 未活化时,Bcl-2 家族成员BAD 可与Bcl-2 形成复合体发挥促凋亡作用,而活化的Akt 催化BAD 发生磷酸化,阻断其与Bcl-2 形成二聚体,进而抑制其发挥促凋亡作用<sup>[21]</sup>。此外,Akt 还能通过抑制Caspase-3 酶活性,阻止凋亡级联反应激活。本研究中,甘草次酸低、中、高浓度组胃癌SGC7901 细胞Bcl-2、p-Akt 蛋白表达水平均显著低于对照组,cleaved Caspase-3 蛋白表达水平显著高于对照组,表明甘草次酸可能通过抑制Akt 活化,促进凋亡因子发挥促凋亡作用。

甘草次酸可能通过抑制PI3K、Akt、mTOR 蛋白磷酸化表达阻断PI3K-Akt-mTOR 信号通路转导,从而抑制胃癌SGC7901 细胞增殖,诱导其凋亡,发挥抗肿瘤作用。但本研究局限于观察时间点较少以及未在研究中设计通路抑制进行验证,甘草次酸抑制胃癌SGC7901 细胞增殖并诱导其凋亡的具体作用机制还需进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 王宏强,邱雷,陆风雁,等. 基于美国SEER数据库分析M0期胃癌患者年龄与临床、病理特征的关系[J]. 中国基层医药, 2019, 26(11): 1372-1374.
- [2] 杨之洵. 中国胃癌发病趋势及预测[J]. 中国肿瘤, 2019, 28(5): 321-326.
- [3] 许婉,刘宁宁,朱梅萍,等. 中医药防治胃癌研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2019(10): 637-642.
- [4] 梁劲康,吴志玲,吴广辉,等. 甘草次酸的抗肝癌作用机制及其作为肝靶向配体的研究进展[J]. 中国药房, 2017, 28(22): 3150-3154.
- [5] 姚俊杰,迟寅秀,高福莲. 甘草次酸对人胃癌SGC7901 细胞增殖的影响及机制[J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(7): 577-580.
- [6] Ung M H, Wang G L, Varn F S, et al. Application of pharmacologically induced transcriptomic profiles to interrogate PI3K-Akt-mTOR pathway activity associated with cancer patient prognosis[J]. Oncotarget, 2016, 7(51): 84142-84154.
- [7] O'Donnell J S, Massi D, Teng M W L, et al. PI3K-AKT-mTOR inhibition in cancer immunotherapy, redux[J]. Semin Cancer Biol, 2018, 48(1): 91-103.
- [8] Tang Z H, Li T, Tong Y G, et al. A systematic review of the anticancer properties of compounds isolated from licorice (Gancao)[J]. Plant Med, 2015, 81(18): 1670-1687.
- [9] Deng C, Zhang B, Zhang S, et al. Low nanomolar concentrations of Cucurbitacin-I induces G<sub>2</sub>/M phase arrest and apoptosis by perturbing redox homeostasis in gastric cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Cell Death Dis, 2016, 7(1): e2106.
- [10] Cheng C, Jiao J T, Qian Y, et al. Curcumin induces G<sub>2</sub>/M arrest and triggers apoptosis via FoxO1 signaling in U87 human glioma cells [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(5): 3763-3770.
- [11] 陈福,许厚强,段志强,等. 甘草次酸调节BLM的转录及PC3 细胞的增殖凋亡和迁移侵袭[J]. 生物技术, 2017, 27(3): 282-288.
- [12] Shi H, Li Y, Ren X, et al. A novel quinazoline-based analog induces G<sub>2</sub>/M cell cycle arrest and apoptosis in human A549 lung cancer cells via a ROS-dependent mechanism [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 486(2): 314-320.
- [13] Wu R, Tang S, Wang M, et al. MicroRNA-497 induces apoptosis and suppresses proliferation via the Bcl-2/Bax-Caspase9-Caspase3 pathway and cyclin D2 protein in HUVECs [J]. PLoS One, 2016, 11(12): e0167052.
- [14] Opferman J T. Attacking cancer's achilles heel: antagonism of anti-apoptotic BCL-2 family members [J]. FEBS J, 2016, 283(14): 2661-2675.
- [15] Tian X, Shi Y, Liu N, et al. Upregulation of DAPK contributes to homocysteine-induced endothelial apoptosis via the modulation of Bcl2/Bax and activation of caspase 3 [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(5): 4173-4179.
- [16] Zhao C, Qiu L, Lv P, et al. AuNP-peptide probe for caspase-3 detection in living cells by SERS [J]. Analyst, 2019, 144(4): 1275-1281.
- [17] Xiao X Q, Yao C, Bian W H, et al. Effects of Astragaloside IV on treatment of breast cancer cells execute possibly through regulation of Nrf2 via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. Food Sci Nutr, 2019(12): 3403-3413.
- [18] Philip C A, Laskov I, Beauchamp M C, et al. Inhibition of PI3K-AKT-mTOR pathway sensitizes endometrial cancer cell lines to PARP inhibitors [J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 638-649.
- [19] Li C, Liang G, Yang S, et al. Dysregulated lncRNA-UCA1 contributes to the progression of gastric cancer through regulation of the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway [J]. Oncotarget, 2017, 8(55): 93476-93491.
- [20] Yan G, Ru Y, Wu K, et al. GOLM1 promotes prostate cancer progression through activating PI3K-AKT-mTOR signaling [J]. Prostate, 2018, 78(3): 166-177.
- [21] Martins F, de Sousa S C, Dos Santos E, et al. PI3K-AKT-mTOR pathway proteins are differently expressed in oral carcinogenesis [J]. J Oral Pathol Med, 2016, 45(10): 746-752.